



PCT/BE 8/00124

09/486167

ROYAUME DE BELGIQUE

MINISTRE DES AFFAIRES ECONOMIQUES
ADMINISTRATION DE LA POLITIQUE COMMERCIALE



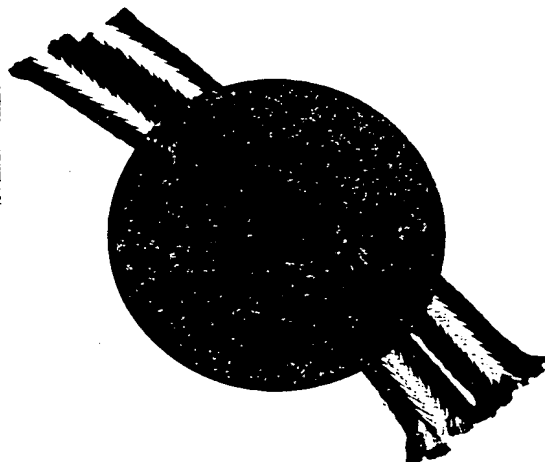
Il est certifié que les annexes à la présente sont la copie fidèle de documents accompagnant une demande de brevet d'invention tels que déposée en Belgique suivant les mentions figurant au procès-verbal de dépôt ci-joint.

Bruxelles, le 24. -8- 1998

Pour le Conseiller de l'Office
de la Propriété industrielle

Le fonctionnaire délégué,

P. LAURENT
CONSEILLER ADJOINT



**PRIORITY
DOCUMENT**

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)



OFFICE DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
PROCES-VERBAL DE DEPOT
D'UNE DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

Nr : 09700692

Aujourd'hui, le 20 - 8 - 1997 en dehors des heures d'ouverture du bureau de dépôt, l'OFFICE DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE a reçu un envoi postal contenant une demande en vue d'obtenir un brevet d'invention relatif à POLYPEPTIDE ASSOCIE AU PEROXYSOME, SEQUENCE NUCLEOTIDIQUE ENCODANT LEDIT
POLYPEPTIDE ET LEUR UTILISATION DANS LE DIAGNOSTIC ET/OU LE TRAITEMENT DE MALADIES
OU DE LÉSIONS PULMONAIRES.

introduite par VAN MALDEREN JOELLE

agissant pour UNIVERSITE CATHOLIQUE DE LOUVAIN HALLES UNIVERSITAIRES

PLACE DE L'UNIVERSITE 1

1348 LOUVAIN-LA-NEUVE

- UNIVERSITE DE MONS-HAINAUT

PLACE DU PARC 20

7000 MONS

en tant que mandataire agréé / avocat / établissement effectif du demandeur.

La réception de la demande de brevet susmentionnée a été actée ce jour, à 15 20 heures.

La demande, telle que déposée, contient les documents nécessaires pour obtenir une date de dépôt conformément à l'article 16, paragraphe 1er de la loi du 28 mars 1984.

Le fonctionnaire délégué,

Bruxelles, le 20 - 8 - 1997

C. BOLLAND
INGENIEUR

5

10 POLYPEPTIDE ASSOCIE AU PEROXYSOME, SEQUENCE NUCLEOTIDIQUE
 ENCODANT LEDIT POLYPEPTIDE ET LEUR UTILISATION DANS LE
 DIAGNOSTIC ET/OU LE TRAITEMENT DE MALADIES OU DE LESIONS
 PULMONAIRES

Objet de l'invention

15 La présente invention est relative à un nouveau polypeptide associé au peroxysome, la séquence nucléotidique encodant ledit polypeptide et les fractions de celle-ci ainsi que leur utilisation pour le diagnostic et/ou le traitement de maladies ou de lésions pulmonaires.

20

Arrière-plan technologique à la base de l'invention

 Les peroxysomes, également dénommés "microbodies", sont des organites intracellulaires qui diffèrent des mitochondries et des chloroplastes présents
25 dans les cellules eukaryotes. Ces organites ne comprennent ni génome, ni ribosomes, mais contiennent certaines enzymes essentielles à différents processus cataboliques et anaboliques. Certaines de ces enzymes sont exprimées de manière continue tandis que d'autres sont induites dans
30 certaines conditions appropriées.

 Les peroxysomes effectuent un certain nombre de réactions essentielles telles que l'oxydation et la

respiration peroxysomale, la β -oxydation des acides gras, le métabolisme du cholestérol et du dolichol, la synthèse des éthers phospholipides, le métabolisme du glyoxylate et le métabolisme de l'acide pipécolique.

5 Le métabolisme de l'oxydation peroxysomale comprend la formation de peroxyde d'hydrogène par un certain nombre d'oxydases et sa décomposition par une catalase.

Ces réactions sont responsables de la
10 consommation de 20% de l'oxygène dans le foie. Différentes oxydases ont été identifiées dans les peroxysomes. L'élimination d'éthanol via la catalase dans le peroxysome et les processus d'oxydation via une déshydrogénase semblent être également des processus biochimiques
15 importants.

Le système de β -oxydation peroxysomale catalyse la β -oxydation des chaînes courtes d'un certain nombre de dérivés d'acides gras qui ne peuvent être traités par les mitochondries. Celle-ci inclut l'oxydation des très
20 longues chaînes d'acides gras, des acides di- ou trihydroxycholestanoïques, de l'acide pristanique, des longues chaînes d'acide dicarboxylique, de certaines prostaglandines, de certaines leukotriènes, des acides 12- et 15-hydroxyeicosatétraéonique, ainsi que de certains
25 acides mono- et polyinsaturés. Le dosage des trois premiers composants est corrélé au diagnostic direct de certains désordres peroxysomaux.

Le peroxysome joue également un rôle essentiel dans la synthèse du cholestérol et d'autres
30 isoprénoïdes. Les fibroblastes de patients affectés par un désordre de la biogenèse du peroxysome montrent une capacité inadéquate à synthétiser le cholestérol.

De même, deux activités enzymatiques sont responsables de l'introduction des liens éthers caractéristiques des éthers phospholipides (la dihydroxyacétone-phosphate acyltransférase (DHAPT) et
5 l'alkyldihydroxyacétone-phosphate-synthétase (alkyl-DHAP-synthétase)) localisés dans les peroxysomes. Ces deux enzymes n'ont pas encore été clonées. Leur importance a été démontrée par l'identification de patients présentant une déficience en l'une ou l'autre de ces enzymes, qui affecte
10 la production de ces éthers phospholipides.

En outre, les peroxysomes sont également aptes à détoxifier le glyoxylate via l'enzyme alanine/glyoxylate aminotransférase. Il est connu que la déficience en cette enzyme clonée est responsable de
15 l'hyperoxaluria de type I.

Le L-pipécolate, qui est un métabolite mineur de la synthèse de L-lysine, est catabolisé par l'enzyme L-pipécolate-oxydase localisée dans les peroxysomes. La déficience en cette enzyme a été identifiée dans le
20 syndrome cérébro-hépatorenal de Zellweger.

Chez l'humain, l'importance des peroxysomes a été démontrée par la présence de maladies induites par un défaut de la biogenèse des peroxysomes ou par la déficience d'une ou plusieurs enzymes peroxysomales.

25 Au moins 12 différents désordres peroxysomaux ont été décrits et la plupart d'entre eux sont létaux. En outre, une grande variété de composants chimiques ont montré leur importance au niveau de la prolifération des peroxysomes et induisent des modifications de l'activité
30 des enzymes peroxysomales et microsomaux responsables de l'oxydation des acides gras chez le rat et la souris.

En outre, certains facteurs prolifératifs de peroxysomes provoquent une augmentation de l'incidence des tumeurs du foie dans certaines espèces.

Différents mécanismes ont été proposés pour
5 la formation des hépato-carcinomes par des composants responsables de la prolifération peroxysomale, combinée à l'induction d'un stress oxydatif.

Par conséquent, l'identification de nouvelles molécules associées aux peroxysomes est d'une grande
10 importance pour développer des outils diagnostiques et éventuellement des applications thérapeutiques dans le traitement de différentes maladies associées à des éventuelles déficiences de ces molécules.

De même, il est particulièrement utile
15 d'identifier d'autres molécules présentes au niveau de certains organes, en particulier le poumon, et d'étudier leur association avec certaines pathologies, en particulier des maladies ou des lésions pulmonaires.

20 Eléments caractéristiques de l'invention

Les Inventeurs ont identifié chez l'homme, dans un lavage alvéolaire des poumons, un nouveau polypeptide dont la séquence nucléotidique et en acides aminés a été caractérisée. Ce nouveau polypeptide ou
25 protéine a été dénommé protéine B18.

Cette molécule présente certaines homologues avec des protéines peroxysomales de la levure et possède un tripeptide carboxyterminal SQL connu pour cibler et faciliter la translocation de certaines protéines au niveau
30 du peroxysome.

L'objet de la présente invention est relatif à toute séquence d'acides nucléiques présentant plus de

70%, avantageusement plus de 85%, de préférence plus de 95% d'homologie avec la séquence SEQ ID NO 1 ou son brin complémentaire décrits ci-après.

La présente invention concerne également la
5 séquence nucléotidique SEQ ID NO 1, son brin complémentaire ou des portions de ceux-ci (figure 5).

On entend par "portions de la séquence SEQ ID NO 1", toute séquence nucléotidique de plus de 15 paires de base susceptible d'identifier ou reconstituer (de
10 préférence par amplification génétique) la séquence SEQ ID NO 1. De telles méthodes d'identification ou de reconstitution sont basées sur la technique d'hybridation, de préférence dans des conditions stringentes, par des sondes marquées (par un élément radioactif, par une enzyme,
15 par un marqueur fluorescent, etc.) ou sur la technique de l'amplification génétique par l'emploi d'une ou plusieurs amorces spécifiques d'au moins 15 nucléotides, permettant d'identifier la séquence SEQ ID NO 1 et/ou de la reconstituer par des techniques d'amplification génétique
20 bien connues de l'homme de l'art, en particulier les technologies PCR, LCR, CPR, etc.

Un autre aspect de la présente invention concerne la séquence d'acides aminés encodée par les séquences nucléotidiques telles que définies ci-dessus.

25 La présente invention concerne également une séquence d'acides aminés présentant plus de 70%, avantageusement plus de 85%, de préférence plus de 95%, d'homologie avec la séquence SEQ ID NO 1 (figure 5).

Un autre aspect de la présente invention est
30 relatif à un polypeptide dont la séquence d'acides aminés est la séquence SEQ ID NO 1 ou une portion de celle-ci.

On entend par "portion de la séquence SEQ ID NO 1", un fragment de la séquence SEQ ID NO 1 ayant subi une ou plusieurs délétions tout en conservant plus de 85%, de préférence plus de 95%, de son activité biochimique.

5 De préférence, ladite séquence polypeptidique SEQ ID NO 1 possède un PI de 7.3 et un poids moléculaire de 17000 D, tels que définis après une électrophorèse bidimensionnelle.

L'invention concerne également les anticorps,
10 y compris des fragments de ceux-ci tels que les extrémités hypervariables Fab, ..., dirigés contre la séquence nucléotidique et peptidique selon l'invention.

Un autre aspect de la présente invention concerne un dispositif de diagnostic tel qu'une trousse de
15 diagnostic ou une colonne de chromatographie comprenant un élément choisi parmi le groupe constitué par les séquences nucléotidiques, les séquences d'acides aminés et/ou des fragments de celles-ci selon l'invention et tels que définis ci-dessus. Ledit dispositif de diagnostic peut
20 également comprendre un ou plusieurs réactif pour la détection et/ou le dosage de séquences nucléotidiques et/ou polypeptidiques basées sur les méthodes choisies parmi le groupe constitué par l'hybridation in situ, l'hybridation et/ou la reconnaissance par anticorps marqués, en
25 particulier la technologie ELISA (Enzymes Linked Immuno-Sorbent Assay) ou RIA (Radio Immuno Assay), la détection sur filtre, sur support solide, en solution, en sandwich, en gel, par hybridation dot blot, Northern blot, Southern blot, marquage isotopique ou non isotopique (en particulier
30 l'immunofluorescence ou la biotininilisation), la technique d'amplification génétique, la technique de double immunodiffusion, la technique de contre-électrophorèse, la

(MMT) ainsi que pour provoquer une augmentation de la perméabilité de la barrière sanguine au niveau des alvéoles (ANTU) .

5 L'analyse par Northern blot a été effectuée au moyen de 15 μ g de RNA total hybridé sur chaque bande avec une sonde de 225 paires de base encodant le polypeptide B18 du rat, fixée et reportée sur une sonde de 572 paires de base encodant la β -actine du rat; les deux sondes étant marquées à l'élément radioactif 32 P.

10 L'analyse par Northern blot a été quantifiée par la Phosphorimaging Technology et les données relatives au mRNA du polypeptide B18 ont été normalisées par rapport au niveau de mRNA de la β -actine.

15 La figure 3 montre que les séquences nucléotidiques selon l'invention peuvent être utilisées comme marqueurs de lésions induites par l'injection d'agents pneumotoxiques connus ou non connus.

REVENDICATIONS

1. Séquence d'acides nucléiques présentant plus de 70% d'homologie avec la séquence SEQ ID NO 1 ou son brin complémentaire.
- 5 2. Séquence d'acides nucléiques présentant plus de 85% d'homologie avec la séquence SEQ ID NO 1 ou son brin complémentaire.
3. Séquence d'acides nucléiques présentant plus de 95% d'homologie avec la séquence SEQ ID NO 1 ou son
10 brin complémentaire.
4. Séquence d'acides nucléiques correspondant à la séquence SEQ ID NO 1, son brin complémentaire ou des portions de ceux-ci comprenant plus de 15 paires de base, susceptible d'identifier ou de reconstituer la séquence SEQ
15 ID NO 1.
5. Séquence d'acides aminés présentant plus de 70% d'homologie avec la séquence SEQ ID NO 1.
6. Séquence d'acides aminés présentant plus de 85% d'homologie avec la séquence SEQ ID NO 1.
- 20 7. Séquence d'acides aminés présentant plus de 95% d'homologie avec la séquence SEQ ID NO 1.
8. Séquence d'acides aminés correspondant à la séquence SEQ ID NO 1 ou une portion de celle-ci.
9. Anticorps dirigé contre les séquences
25 selon l'une quelconque des revendications précédentes.
10. Dispositif de diagnostic comprenant un élément choisi parmi le groupe constitué par les séquences d'acides nucléiques, les séquences d'acides aminés, des portions de celles-ci et/ou les anticorps selon l'une
30 quelconque des revendications précédentes.
11. Dispositif selon la revendication 10, caractérisé en ce qu'il est une trousse de diagnostic ou

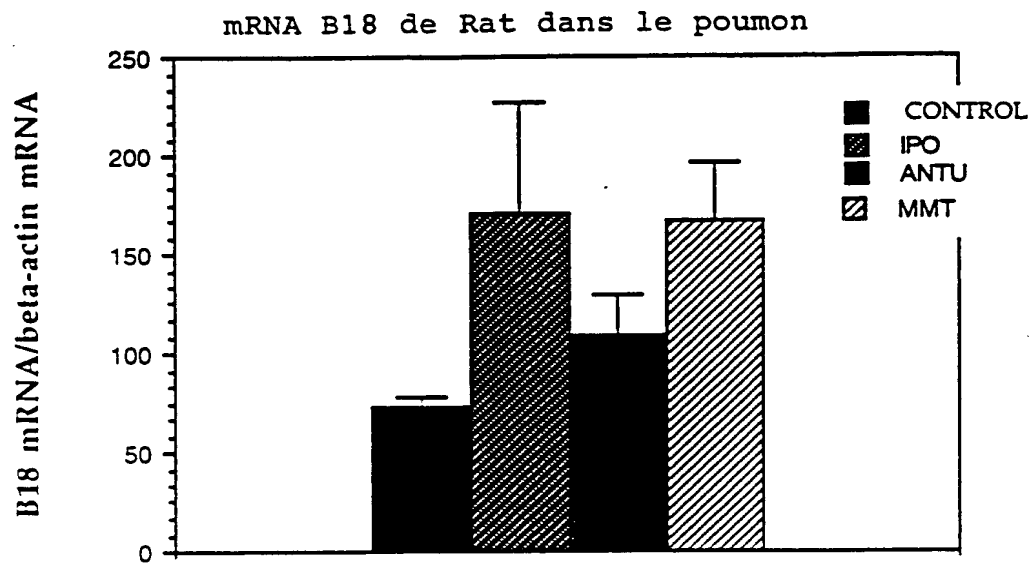


FIG.3

U82615 TCAGTATCGGCGGAATTCGXXXTXXXXTCXAXXGGATTGGAATTGGCCTT
B18 -----GCCAGG--AGGCGGAGTGGAAGTGGCCGT
*** ***** *

U82615 GGGGCGGGTTTGGGACTAGCTGGCGTGTGCGCCCTGAXACGCTCAGCGGG
B18 GGGGCGGGTATGGGACTAGCTGGCGTGTGCGCCCTGAGACGCTCAGCGGG

U82615 CTATATACTCGTCGGTGGGGCCGGCGGTCTGCGGCAGCGGCAGCAA
B18 CTATATACTCGTCGGTGGGGCCGGCGGTCTGCGGCAGCGGCAGCAA

U82615 XACGGTGCAGTGAAGGAAAAXTGGGCGTCTGGCGGGGTCCGCAGTTTCAG
B18 GACGGTGCAGTGAAGGAGA-GTGGGCGTCTGGCGGGGTCCGCAGTTTCAG

U82615 CAAAGCCGCTGCAGCCATGGCCCCAATCAAGGTGGGAGATGCCATCCCAG
B18 CAGAGCCGCTGCAGCCATGGCCCCAATCAAGGTGGGAGATGCCATCCCAG
** *****

U82615 CAXTGGAGGTGTTTTGAAGGGGAGCCAGGGAACAAGGTGAACCTGGCAA
B18 CAGTGGAGGTGTTT-GAAGGGGAGCCAGGGAACAAGGT-GAACCTGGCAG
** *****

U82615 AXCTGTTCAAXGGCAAAAAGGTTGTGCTGTTTGAATTCCCXGGGGCCTC
B18 AGCTGTTCAAGGGCAAGAAGGGTGTGCTGTTTGGAGTTCC-TGGGGCCTT
* *****

U82615 CACCCCTGAXTTTTCCCAAAAXCACCTTCCCAGGTTT-----
B18 CACCCCTGGATGTTTCCAAGACACACCTGCCAGGGTTTGTGGAGCAGGCTG

U82615 ---TTTTXAA---CAAGX-----TTAA-
B18 AGGCTCTGAAGGCCAAGGGAGTCCAGGTGGTGGCCTGTCTGAGTGTAAAT
* * * * *

U82615 ---GCXCCTA-----AAGGC-----CAX
B18 GATGCCTTTGTGACTGGCGAGTGGGGCCGAGCCCAACAAGGCGGAAGGCAA
* * * * *

U82615 GA----ATTCCCG-----TXXXXGXCCTTT-----
B18 GGTTCGGCTCCTGGCTGATCCCACTGGGGCCTTTGGGAAGGAGACAGACT
* * * * *

U82615 -----TCAAT-----TTTTTAAAACCCX---TTTTAAX
B18 TATTACTAGATGATTGCTGGTGTCCATCTTTGGGAATCGACGTCTCAAG
* * * * *

U82615 XX-----CAAAXTTG-----GGCCCCAAXCC-----
B18 AGGTTCTCCATGGTGGTACAGGATGGCATAGTGAAGGCCCTGAATGTGGA
* * * * *

U82615 -CCAAAAGXCAAAAX-----
B18 ACCAGATGGCACAGGCCTCACCTGCAGCCTGGCACCCCAATATCATCTCAC
* * * * *

U82615 -----GA-----AGGTT--TTCCCCCCCCC-----
B18 AGCTCTGAGGCCCTGGGCCAGATTACTTCTCCACCCCTCCCTATCTCAC
* * * * *

U82615 -----GCAA-----
B18 CTGCCCAGCCCTGTGCTGGGGCCCTGCAATTGGAATGTTGGCCAGATTTT

U82615 -----ACCCCCXXTGGXC-----G
B18 TGCAATAAACACTTGTGTTTGGCGAAAAAAA
* * * * *

FIG. 4

Sequence B18 Protéine: pI (théorique): 6,96-7,3 MW: 16.899
aa: 162

```

| | | | | 60
GCCAGGAGGCGGAGTGAAGTGGCCGTGGGGCGGGTATGGGACTAGCTGGCGTGTGCGCC

| | | | | 120
CTGAGACGCTCAGCGGGCTATATACTCGTCCGTGGGGCCGGCGGTTCAGTCTGCGGCAGCG

| | | | | 180
GCAGCAAGACGGTGCAGTGAAGGAGAGTGGGCGTCTGGCGGGGTCCGCAGTTTCAGCAGA

| | | | | 240
GCCGCTGCAGCCATGGCCCCAATCAAGGTGGGAGATGCCATCCCAGCAGTGGAGGTGTTT
      M  A  P  I  K  V  G  D  A  I  P  A  V  E  V  F

| | | | | 300
GAAGGGGAGCCAGGGAACAAGGTGAACCTGGCAGAGCTGTTCAAGGGCAAGAAGGGTGTG
      E  G  E  P  G  N  K  V  N  L  A  E  L  F  K  G  K  K  G  V

| | | | | 360
CTGTTTGGAGTTCCTGGGGCCTTCACCCCTGGATGTTCCAAGACACACCTGCCAGGGTTT
      L  F  G  V  P  G  A  F  T  P  G  C  S  K  T  H  L  P  G  F

| | | | | 420
GTGGAGCAGGCTGAGGCTCTGAAGGCCAAGGGAGTCCAGGTGGTGGCCTGTCTGAGTGTT
      V  E  Q  A  E  A  L  K  A  K  G  V  Q  V  V  A  C  L  S  V

| | | | | 480
AATGATGCCTTTGTGACTGGCGAGTGGGGCCGAGCCCACAAGGCGGAAGGCAAGGTTTCGG
      N  D  A  F  V  T  G  E  W  G  R  A  H  K  A  E  G  K  V  R

| | | | | 540
CTCCTGGCTGATCCCACTGGGGCCTTTGGGAAGGAGACAGACTTATTACTAGATGATTCCG
      L  L  A  D  P  T  G  A  F  G  K  E  T  D  L  L  L  D  D  S

| | | | | 600
CTGGTGTCCATCTTTGGGAATCGACGTCTCAAGAGGTTCTCCATGGTGGTACAGGATGGC
      L  V  S  I  F  G  N  R  R  L  K  R  F  S  M  V  V  Q  D  G

| | | | | 660
ATAGTGAAGGCCCTGAATGTGGAACCAGATGGCACAGGCCTCACCTGCAGCCTGGCACCC
      I  V  K  A  L  N  V  E  P  D  G  T  G  L  T  C  S  L  A  P

| | | | | 720
AATATCATCTCACAGCTCTGAGGCCCTGGGCCAGATTACTTCCTCCACCCCTCCCTATCT
      N  I  I  S  Q  L  *

| | | | | 780
CACCTGCCCAGCCCTGTGCTGGGGCCCTGCAATTGGAATGTTGGCCAGATTCTGCAATA

| | | | | 840
AACACTTGTGGTTTTCGGGAAAAAA
```

FIG. 5

09700692

15

une colonne de chromatographie.

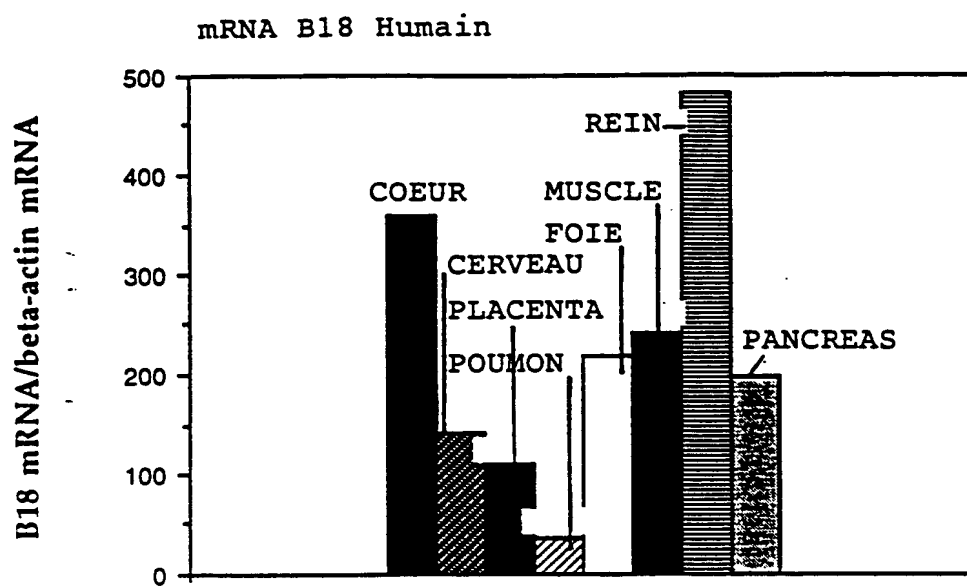


FIG.1

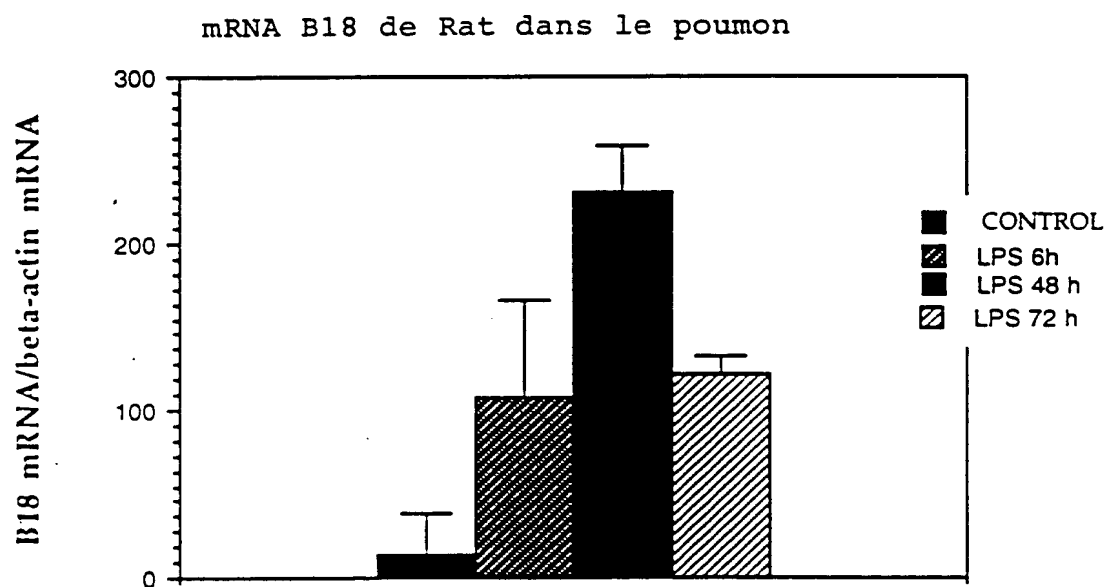


FIG.2

Exemple 3

Une analyse par Northern blot du mRNA codant pour la protéine B18 du rat a été analysée au niveau du poumon du rat après 6, 48 et 72 heures suivant l'administration au rat de lipopolysaccharides (LPS) induisant une réaction inflammatoire au niveau du poumon.

Cette analyse a été obtenue par Northern Blot au moyen de 15 µg de RNA total hybridé sur chaque bande avec une sonde de 225 paires de base encodant la protéine B18 du rat, fixée et reportée sur une sonde de 572 paires de base encodant la β -actine du rat; les deux sondes étant marquées à l'élément radioactif ^{32}P .

L'analyse par Northern blot a été quantifiée par Phosphorimaging Technology et les données relatives au mRNA encodant le polypeptide B18 ont été normalisées par rapport au niveau de mRNA de la β -actine.

La figure 2 indique que l'on peut utiliser les séquences selon l'invention comme marqueurs d'une infection inflammatoire au niveau des poumons.

20

Exemple 4

Les Inventeurs ont fait une analyse par Northern blot de la présence de mRNA encodant le polypeptide B18 au niveau d'un poumon de rat après injection intra-péritonéale d'agents pneumotoxiques.

Ces agents sont le 4-ipoméanol, 1-(3-furyl)-4-hydroxypentanone (IPO), le méthylcyclopentadiényle manganèse tricarbonyle (MMT) et le α -naphtylthiourée (ANTU).

30

Ces agents sont connus pour induire au niveau des poumons des lésions aiguës des cellules de clara (IPO) ou des lésions aiguës au niveau des cellules alvéolaires

nucléotidique U82615 du tableau 2.

Le listing ci-dessous reprend les séquences EST présentant une homologie avec le cDNA de la protéine B18 (805 nucléotides).

Humain :

AA130751, N42215, W38597, N91311, N68467, AA187737, N68916, W00593, R88950, AA181884, H20154, H66666

10 Souris :

AA220019, AA123351, AA087129, AA255021, AA249897, W71344

Exemple 2

Une analyse par Northern blot dans différents tissus humains de l'ARN messager encodant le polypeptide B18 humain selon l'invention et représentée sur la figure 1 annexée donne une révélation particulière au niveau du poumon.

Cette analyse a été obtenue à partir d'une trousse Multiple Tissues Northern Blot ® (Clontech), comprenant approximativement 2 µg d'une séquence poly-A et d'un ARN humain dans chacune des lignes hybridées avec une sonde B18 de 554 paires de bases fixée et reportée avec une sonde de β-actine de 2 kb; toutes deux marquées à l'élément radioactif ³²P.

L'analyse par Northern blot a été déterminée par Phosphorimaging Technology et les données relatives au mRNA du polypeptide B18 ont été normalisées par rapport au niveau de mRNA de la β-actine.

Nom	Code identification NCBI ID	Identité (% d'homologie)
Protéine hypothétique Haein HI0572	1723174	32/76 (42%) 10/26 (38%)
Non connu (Rhizobium sp.)	1486441	31/61 (50%) 8/20 (40%)
Protéine A de la membrane peroxysomale (PMP20)	130360	29/69 (42%) 8/14 (57%)
Protéine D de la membrane peroxysomale (PMP20)	130361	30/82 (36%) 8/14 (57%)
Protéine peroxysomale PMP yeast putative	1709682	12/33 (36%) 8/28 (28%) 7/11 (63%)
Protéine alkylhydroperoxyde réductase	1591451	14/44 (38%) 8/28 (28%)

Le tableau 2 reprend les pourcentages d'homologie entre le cDNA de la protéine B18 (805 nucléotides) avec d'autres séquences nucléotidiques.

5

Tableau 2

Nom	Numéro d'accès	Identité
mRNA humain sous la régulation de cellules infectées par des adenovirus 5	U82616	273/292 (93%)
	U82615	129/136 (94%)
		99/108 (91%)
		74/105 (70%)

La figure 4 représente l'alignement de la séquence nucléotidique du B18 et de la séquence

La figure 3 représente une analyse par Northern blot de la présence de l'ARN messager encodant le polypeptide B18 selon l'invention au niveau du poumon d'un rat après une injection intrapéritonéale d'agents pneumotoxiques.

La figure 4 représente l'alignement de la séquence nucléotidique selon l'invention avec une séquence nucléotidique connue (U82615).

La figure 5 représente la séquence nucléotidique SEQ ID NO 1 selon l'invention.

Exemple 1 : Homologie de la séquence SEQ ID NO 1 avec des séquences connues

Le polypeptide B18 (figures 5 et 6) de l'invention a été aligné avec des séquences homologues de protéines connues présentes dans les banques de données (GenBank, EMBL, DDBJ, PDB) ainsi qu'avec des séquences EST présentes dans GenBank. Ces résultats sont repris dans le tableau 1 ci-dessous.

Tableau 1 : Homologies entre la protéine B18 (162 acides aminés) et d'autres protéines

Nom	Code identification NCBI ID	Identité (% d'homologie)
Protéine de membrane (synechocystis sp.)	1652859	33/60 (55%)
		8/19 (42%)
		9/23 (39%)
Lipomyces kononenkoae putative peroxisomal protein	558080	32/75 (42%)
		7/23 (30%)
		7/18 (43%)

technique d'héماغglutination ou un mélange d'entre elles.

Un autre aspect de la présente invention concerne un inhibiteur dirigé contre les séquences nucléotidiques, les séquences d'acides aminés et/ou des
5 fragments de celles-ci selon l'invention, de manière à empêcher ou réduire les symptômes et/ou lésions induites par lesdites séquences ou l'expression desdites séquences, en particulier dans le domaine des maladies et/ou des lésions pulmonaires.

10 Un tel inhibiteur est par exemple un anticorps dirigé contre le peptide selon l'invention ou une séquence anti-sens ou un ribozyme s'hybridant (de préférence dans des conditions stringentes) avec les séquences susmentionnées.

15 Un autre aspect de la présente invention concerne une composition pharmaceutique comprenant les séquences nucléotidiques, les séquences d'acides aminés et/ou des fragments de celles-ci selon l'invention et/ou un inhibiteur dirigé contre lesdites séquences ainsi qu'un
20 véhicule pharmaceutique adéquat.

Le véhicule pharmaceutique selon l'invention varie selon le mode d'administration choisi (intraveineuse, intramusculaire, orale, etc.) et est un excipient bien connu de l'homme de l'art, présenté sous forme de
25 tablettes, de pilules, de capsules, de solutions, de sirops, etc. Ce composant comprend éventuellement des adjuvants bien connues de l'homme de l'art de manière à induire ou supprimer certaines réactions immunitaires ou cellulaires spécifiques ou de manière à réduire certains
30 effets secondaires ou toxiques non désirés.

Le pourcentage de produit actif (séquence nucléotidique, séquence d'acides aminés ou fragments de

celles-ci) dans la composition pharmaceutique peut varier selon de très larges gammes, uniquement limitées par la fréquence d'administration, la tolérance et le niveau d'acceptation de la composition selon l'invention par le
5 patient.

Un dernier aspect de la présente invention concerne l'utilisation du dispositif de diagnostic selon l'invention pour le diagnostic de maladies et/ou de lésions physiologiques chez l'homme ou l'animal, en particulier
10 pour le diagnostic de maladies et/ou de lésions pulmonaires.

La présente invention concerne également l'utilisation de la composition pharmaceutique selon l'invention pour la préparation d'un médicament destiné au
15 traitement et/ou à la prévention de maladies et/ou de lésions physiologiques chez l'homme ou l'animal, en particulier de maladies et/ou de lésions pulmonaires.

La présente invention sera décrite en détails dans les exemples suivants, en référence aux figures
20 annexées.

Brève description des figures

La figure 1 représente une analyse par Northern blot de la présence de l'ARN messager encodant le
25 polypeptide selon l'invention dans différents types de tissus humains.

La figure 2 représente une analyse par Northern blot de la présence de l'ARN messager encodant le polypeptide selon l'invention au niveau du
30 poumon d'un rat après administration de lipopolysaccharides (LPS) induisant une réaction inflammatoire du poumon.